

Programma dettagliato:

- Le molecole informazionali. Struttura chimica degli acidi nucleici DNA e RNA e dei loro precursori nella rappresentazione di Haworth. Correlazioni tra composizione e finalità informazionali.
 - Dinamismo della struttura del DNA. Struttura A, B, Z. Superavvolgimento della doppia elica e strutture locali (forcina, H, slipped). Isomeri topologici. Ruolo delle topoisomerasi.
 - Proprietà fisiche del DNA. Relazioni tra il %GC di un DNA, la sua densità e la temperatura di fusione. Denaturazione e rinaturazione di un DNA. Studio cinetico della rinaturazione. Abbondanze relative di sequenze diverse; paradosso del valore C. Complessità dai Cot1/2.
 - Duplicazione del DNA. Meccanismi di inizio, allungamento e termine. Le proteine e le attività enzimatiche coinvolte nella sintesi duplicativa. DNA polimerasi di *E.coli* e loro caratteristiche. DNA polimerasi di eucarioti. Semiconservatività. Discontinuità, semidiscontinuità, Bidirezionalità. Telomerasi, telomeri e loro mantenimento. I nucleosomi nella duplicazione della cromatina di eucarioti.
- I meccanismi per la sintesi di riparazione del DNA.

La metilazione del DNA. Funzione in procarioti ed eucarioti e suo ruolo nella regolazione dell'espressione genica.

- Tipi di RNA nelle cellule: abbondanza, caratteristiche, localizzazioni e funzioni. Trascrizione nei procarioti. RNA polimerasi e suo meccanismo. Concetto di trascritto primario. Funzioni regolate nell'espressione. Trascrizione in eucarioti: RNA pol. I, I e III. Motivi e domini di fattori trascrizionali per la RNA pol II. Passi di maturazione di trascritti primari per mRNA, tRNA e rRNA modifiche di basi. Capping, poliadenilazione. Splicing e sue varianti. Editing di RNA. Organizzazione di mRNA maturi e controlli post trascrizionali (stabilità, interferenza dell'RNA). Complesso dei meccanismi di regolazione dell'espressione genica in eucarioti.
- Il codice genetico. La traduzione: attivazione degli aminoacidi e aminoacil-tRNA sintetasi. I ribosomi procariotici ed eucariotici.

Meccanismi di sintesi proteica in procarioti e in eucarioti. Inizio, allungamento e termine e relativi fattori coinvolti in procarioti e in eucarioti.

- Maturazione post-traduzionale delle proteine e segnali di localizzazione

- Sistemi di espressione eterologa in procarioti e in eucarioti

- Retrovirus. Ciclo vitale e trascrittasi inversa. Geni v-onc e c-onc.
- Tecniche di base di Biologia Molecolare e del DNA ricombinante. --- ●Elettroforesi varie, centrifugazioni.
- Preparazione di DNA (genomico e plasmidico) e di RNA. Southern, Northern e Western blotting. Sonde e loro marcatura.
- Le nucleasi di restrizione. Mappe di restrizione.
- Il clonaggio: vettori e ospiti. Genoteche genomiche e di cDNA.
- Metodi per la determinazione della sequenza del DNA.
- I metodi per lo studio dell'interazione DNA-proteine (EMSA, Footprinting, Interferenza della metilazione, ChIP)
- La PCR, RT-PCR, RFLP e derivati.

Esercitazioni pratiche su:

- mappe di restrizione
- lettura di sequenze di DNA direttamente da lastra autoradiografica o elettroferogramma
- allestimento di esperimenti di idrolisi con enzimi di restrizione di DNA genomico e plasmidico.
- Elettroforesi in gel di agarosio. Southern blotting.
- Bioinformatica :Interrogazione di banche dati. Confronto fra sequenze nucleotidiche e amminoacidiche. Allineamento globale e locale significato biologico dell'allineamento - Allineamento multiplo di sequenze con Clustal W.